

# 慢性浅表性胃炎不同证型大鼠琥珀酸脱氢酶活性与细胞色素 C 含量对比研究

王丽 李翌萌

**【摘要】 目的** 探讨慢性浅表性胃炎(chronic superficial gastritis, CSG)脾虚与湿热证模型大鼠胃组织琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)的活性及细胞色素 C(cytochrome C, Cyt-C)的含量变化,从能量代谢的角度揭示 CSG 不同证候的实质。**方法** 用水杨酸钠溶液灌胃法复制大鼠单纯 CSG 模型,在此基础上,用小承气汤泻下法及饥饱失常法复制脾虚 CSG 模型;用肥甘辛辣饮食法复制湿热 CSG 模型,5 周后,检测大鼠胃组织琥珀酸脱氢酶活性及细胞色素 C 含量。**结果** SDH 的含量为:湿热 CSG 组最高,而脾虚 CSG 组最低。脾虚 CSG 组与湿热 CSG 组分别与其他组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );胞浆中 Cyt-C 含量造模组均高于正常组,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),其中脾虚 CSG 组最高,湿热 CSG 组次之,两组之间比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** CSG 不同证型大鼠胃组织 SDH 活性及 Cyt-C 含量的差异,提示同一疾病不同证型之间能量代谢状态的不同,湿热证相对于脾虚证能量代谢较亢进。

**【关键词】** 湿热证; 脾虚证; 琥珀酸脱氢酶; 细胞色素 C; 慢性浅表性胃炎

**【中图分类号】** R573.3+1 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.03.012

**Contrast of succinate dehydrogenase vitality and cytochrome C content in rats of different syndromes of chronic superficial gastritis** WANG Li, LI Yi-meng. Nursing College of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

Corresponding author: WANG Li, E-mail: wltcm@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the mechanisms of different syndromes in terms of the energy metabolism by observing the activity changes of succinate dehydrogenase (SDH) and the content changes of cytochrome C (Cyt-C) in rats with chronic superficial gastritis (CSG) of spleen-deficiency syndrome and damp-heat syndrome. **Methods** CSG rat model was established by the intragastric administration of sodium salicylate solution. CSG rat model with spleen-deficiency syndrome was established by Xiaochengqi Decoction-induced purgation and eating disorders. CSG rat model with damp-heat syndrome was established by feeding fat, sweet and spicy diet. Five weeks later, SDH activity and Cyt-C content of gastric tissue were determined. **Results** The activity of SDH in damp-heat CSG group was the highest of all, but which in spleen-deficiency CSG group was the lowest. The activity of SDH was obviously changed in damp-heat CSG group also in spleen-deficiency CSG group in comparison with the other three groups, respectively. ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The content of Cyt-C in the three model groups was higher than which in normal group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The content of Cyt-C in spleen-deficiency CSG group was the highest of all, with the damp-heat CSG group secondarily. There was a significantly content difference between the two groups ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The difference in the SDH activity and Cyt-C content of CSG rat with different syndromes, revealed the different energy metabolism of different syndromes for the same disease, the energy metabolism of damp-heat syndrome was higher than which of spleen-deficiency syndrome.

**【Key words】** Damp-heat syndrome; Spleen-deficiency syndrome; Succinate dehydrogenase; Chronic superficial gastritis

作者单位:110847 沈阳,辽宁中医药大学护理学院(王丽);大连市第二人民医院消化科(李翌萌)

作者简介:王丽(1978-),女,博士,讲师。研究方向:中医消化病基础及临床研究。E-mail:wltcm@126.com

慢性浅表性胃炎 (chronic superficial gastritis, CSG) 为消化系统的一种常见病,指胃黏膜呈慢性浅表性炎症改变。有研究<sup>[1]</sup>发现,脾虚证和湿热证是其较多见的证型。琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase, SDH) 是三羧酸循环中的一个重要的酶,在生物体内,能催化琥珀酸脱氢转变成延胡索酸,同时释放出大量能量供机体利用。相关研究<sup>[2]</sup>得出结论,SDH 活性高低与细胞有氧代谢呈正相关。细胞色素 C (cytochrome C, Cyt-C) 是线粒体呼吸链中传递电子的载体,研究<sup>[3]</sup>指出,如果 Cyt-C 功能障碍,则会引起线粒体呼吸链功能异常,导致 ATP 缺失,出现细胞死亡。本研究通过复制慢性浅表性胃炎大鼠脾虚证和湿热证模型,检测大鼠胃组织 SDH 活性及胞浆中细胞色素 C 的含量,以期从能量代谢的角度探讨 CSG 脾虚证及湿热证的实质。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

40 只清洁级 SD 大鼠 [合格证号: SCXK (京) 2007-0001], 体质量 (170 ± 20) g, 雌雄各半。

### 1.2 分组与造模

参考文献<sup>[4-6]</sup>进行造模。40 只大鼠用随机数字表法选出 10 只,每天灌胃 2 mL 生理盐水,持续 5 周,此为正常对照组;另 30 只每天灌胃 5% 水杨酸钠溶液 10 mL/kg · d, 3 周后,用随机数字表法将其平均分为以下三组:单纯 CSG 组、脾虚 CSG 组和湿热 CSG 组。此三组继续按体重灌胃 5% 水杨酸钠溶液,在此基础上,脾虚 CSG 组另予小承气汤 10 mL/kg · d 灌胃,隔日半量饮食,自由饮水;湿热 CSG 组大鼠可自由饮用 200 g/L 的蜂蜜水,隔日交替灌服 10 mL/kg · d 的白酒与油脂;而单纯 CSG 组不加其他因素,2 周后,造模结束。此造模过程共持续 5 周,3 只大鼠由于灌胃不慎等原因死亡。

### 1.3 主要试剂

SDH 试剂盒 (批号: 20101207)、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒 (批号: 20101207)、大鼠 Cyt-C 定量检测试剂盒 (批号: 20101207), 均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.4 主要仪器

anthos 2010 全自动酶标仪 (奥地利安图公司), TU-1810 紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器

有限公司);匀浆器;BX51 Olympus 荧光显微镜 (日本奥林巴斯公司);TGL-20M 高速台式冷冻离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司);精密移液器;SHA-B 恒温振荡器 (常州国华电器有限公司);

### 1.5 指标检测

1.5.1 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 检测 大鼠处死后剖开腹腔,称量一定量的胃组织,加 9 倍生理盐水,制成 10% 的匀浆,2500 r/min 离心 10 分钟后,按试剂盒说明方法取上清液进行 SDH 活性检测。

1.5.2 细胞色素 C (Cyt-C) 检测 将准确称量的胃组织按重量体积比加入 4 倍的生理盐水,制成 20% 的匀浆,2500 r/min 离心 10 分钟后弃沉淀,取上清液,再以 10000 r/min 低温离心 15 分钟,取上清液,上清液为胞浆,采用双抗体两步法夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 进行 Cyt-C 含量的测定。

### 1.6 统计学分析

运用 SPSS17.0 软件进行数据分析,数据以均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用单因素方差分析 (ANOVA) LSD 法进行组间均数的比较。 $P < 0.05$  则认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠胃组织 SDH 活性变化比较

大鼠胃组织 SDH 活性比较:湿热 CSG 组最高,而脾虚 CSG 组最低。各组数值经 Levene 检验方差齐,说明组间有差异,用 LSD 法进行组间比较,得出以下结果:脾虚 CSG 组分别与其它三组比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ );湿热 CSG 组分别与其他三组比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );正常组与单纯 CSG 组比较,差异未有统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 大鼠胃组织 SDH 活性及胞浆 Cyt-C 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SDH (U/mgprot)	Cyt-C (nmol/L)
正常组	10	2.24 ± 0.50 <sup>ac</sup>	62.57 ± 7.01 <sup>e</sup>
单纯 CSG 组	10	1.84 ± 0.22 <sup>bc</sup>	71.87 ± 5.9 <sup>cd</sup>
湿热 CSG 组	8	2.84 ± 0.48 <sup>c</sup>	74.93 ± 8.97 <sup>ce</sup>
脾虚 CSG 组	9	1.12 ± 0.56 <sup>b</sup>	86.43 ± 3.58

注:与湿热 CSG 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与脾虚 CSG 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$ ;与正常组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ,<sup>e</sup> $P < 0.01$

### 2.2 各组大鼠胃组织 Cyt-C 含量变化比较

大鼠胃组织胞浆中 Cyt-C 含量比较:造模三组

均高于正常对照组。其中,湿热 CSG 组最高,脾虚 CSG 组次之,各组经 Levene 检验方差齐,说明总体有差异,采用 LSD 法进行多组间比较,得出以下结果:脾虚 CSG 组分别与其他三组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );正常组分别与单纯 CSG 组及湿热 CSG 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );湿热 CSG 组与单纯 CSG 组比较,差异未有统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 3 讨论

SDH 是线粒体内膜的结合酶,为线粒体的一种标志酶,可为真核细胞线粒体和多种原核细胞需氧和产能的呼吸链提供电子,SDH 的活性增高,标志着细胞内能量即 ATP 生成增强<sup>[7]</sup>。

实验中湿热 CSG 组大鼠胃组织 SDH 活性增强,提示机体能量生成增加,究其原因有可能与热证时细胞线粒体氧化磷酸化功能亢进有关。有研究<sup>[8]</sup>通过复制大鼠实热证、虚热证模型,发现肝细胞线粒体呼吸链 SDH 活力升高,后经清热中药干预 2 周后,SDH 活力有所恢复,提示热证与机体能量代谢的正相关性。

实验中脾虚 CSG 组大鼠胃组织 SDH 活性明显低于其他三组,其活性下降原因可能因为机体处于正气不足的虚证状态,组织细胞代谢低下,而 SDH 活性亦随着线粒体功能下降而降低。相关研究<sup>[9]</sup>用大黄复制大鼠脾虚模型,发现 SDH 含量明显降低,与本研究结果相一致。

Cyt-C 是生物氧化呼吸链中重要的电子传递体,供应细胞能量。正常情况下,位于线粒体内、外膜之间,不能透过外膜。但当组织缺氧等致细胞膜通透性增高时,细胞色素 C 可以穿过外膜<sup>[10]</sup>,进入到胞浆中。亦有研究<sup>[11]</sup>表明在长期脾虚状态下,各器官线粒体 DNA 受到损害,机体能量代谢相应减少。通过本研究可知:脾虚组大鼠的胃细胞胞浆内 Cyt-C 含量最高,由此推测可能是由于脾虚,正气不足,线粒体呼吸链功能异常,ATP 缺乏,能量产生不足,细胞功能下降,导致细胞膜通透性相对增高,Cyt-C 透过线粒体外膜进入胞浆,出现胞浆内 Cyt-C 含量增高的变化。

本研究显示湿热 CSG 组大鼠 Cyt-C 含量高于正常组,差异有统计学意义;但不及脾虚 CSG 组( $P < 0.01$ ),与单纯 CSG 组比较差异未有统计学

意义( $P > 0.05$ ),关于湿热证大鼠细胞色素 C 活性研究的相关报道较少,尚未查到,其作用机制尚待进一步探讨,亦不排除本研究由于样本含量、造模方法、实验手段、操作流程等出现的偏倚所致。

相关研究<sup>[6]</sup>指出,大鼠脾虚状态下肝脏线粒体琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶活性均显著降低,说明线粒体受损,能量代谢出现障碍。本研究亦发现,SDH 活性及 Cyt-C 含量在湿热 CSG 组及脾虚 CSG 组大鼠中存在差异,由此可推断病同证不同,则其分子生物学指标出现差异,这可能是证在微观指标上的体现。关于细胞色素 C 的释放途径、发生机制等,尚待进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] 谢淑颖,周晓虹.慢性胃炎的中医常见证型研究[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(4):53-54.
- [2] 林莉,黄秀深,罗明凤,等.中焦湿阻证 Cajal 细胞内乳酸脱氢酶和琥珀酸脱氢酶活力变化及胃胃散的干预研究[J].时珍国医国药,2011,22(11):2575-2577.
- [3] Sivakolundu SG, Mabrouk PA. Structure-function relationship of reduced cytochrome c probed by complete solution structure determination in 30% acetonitrile/water solution[J]. J Biol Inorg Chem, 2003,8(5):527-539.
- [4] 翁一洁,郑学宝.大鼠内因湿热造模方法研究[J].时珍国医国药,2010,21(2):479-480.
- [5] 王利芳,乔樵,朱曙东.云香复合胃痛胶囊对慢性浅表性胃炎大鼠胃分泌功能的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2008,16(6):372-374.
- [6] 宋雅芳,王汝俊,刘友章,等.健脾益气中药对脾虚大鼠肝组织线粒体功能的影响[J].中药新药与临床药理,2009,20(5):423-426.
- [7] 尔森.生物化学精华[M].张增明,译.上海:上海科学普及出版社,1989:88-242.
- [8] 陈群,刘亚梅,徐志伟,等.实热证、虚热证模型大鼠肝细胞琥珀酸脱氢酶活性研究[J].北京中医药大学学报,2000,23(5):48-49.
- [9] 刘旺根,王红霞,王雪萍.黄芪建中汤对大鼠脾虚证胃粘膜酶组织化学的影响[J].浙江中医杂志,2004,39(8):355-356.
- [10] 王叨,刘玉峰.细胞色素 C 与细胞凋亡的研究进展[J].中国小儿血液,2004,9(4):181-183.
- [11] 刘友章,王昌俊,周俊亮,等.四君子汤修复脾虚大鼠线粒体细胞色素氧化酶的作用及机制[J].中国临床康复,2006,10(35):118-121.

(收稿日期:2014-03-08)

(本文编辑:蒲晓田)